Aus dem Anatomischen Institut der Philipps-Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. G. Petry

Histologische und histochemische Untersuchungen an der Prostata des Rindes vor und nach der Geschlechtsreife

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

MANOUTSCHEHR DJANNATIAN
aus Isfahan

Marburg 1973

Druck: Georg Nolte, Marburg, Biegenstraße 5

Aus dem Anatomischen Institut der Philipps-Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. G. Petry

Histologische und histochemische Untersuchungen an der Prostata des Rindes vor und nach der Geschlechtsreife

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

MANOUTSCHEHR DJANNATIAN
aus Isfahan

Marburg 1973

Druck: Georg Nolte, Marburg, Biegenstraße 5

Angenommen von dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg am 18. 9. 1973
gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Prof. Dr. H. Oepen
Referent : Prof. Dr. Dr. K.-H. Wrobel
Correferent: Prof. Dr. G. Petry

Meinem Lehrer, Herrn Prof. Dr. Dr. K.-H. Wrobel,

für seine unersätzliche Unterstützung und Geduld

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. G. Petry für die Überlassung des Arbeitsplatzes und seine wertvolle Hilfe danken. Auch Mitarbeitern des Anatomischen Instituts Marburg, besonders Frl. Ahrens, bin ich zu Dank verpflichtet. In Liebe und Dankbarkeit möchte ich hier auch meine Frau erwähnen, die mir jederzeit mit Rat und Tat beiseite stand.

Marburg, September 1973
M. Djannatian

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methoden	2
Befunde Allgemeine Histologie und Substrathistochemie	4
Enzymhistochemische Befunde	7
Diskussion	15
Zusammenfassung	21

Einleitung

Die Prostata ist die einzige akzessorische Geschlechtsdrüse, die bei allen höheren Säugetieren angetroffen wird. Monotremata besitzen keine Prostata.

Grundsätzlich kann man an der Prostata der Säugetiere zwei makroskopisch unterschiedliche Regionen erkennen, eine Pars externa oder Corpus prostaticum und eine Pars interna oder Prostata disseminata. Die Pars externa oder das Corpus prostaticum liegt in der Höhe des Colliculus seminalis und stellt einen abgegrenzten Komplex aus mehreren Einzeldrüsen dar, welcher entweder der Urethra dorsal aufsitzt oder die gesamte Harnröhre umgibt. Die Pars interna oder Prostata disseminata besteht aus Einzeldrüsen, welche innerhalb der Submucosa des Beckenstückes der Harnröhre eingelagert sind.

Von den bisher näher untersuchten Wiederkäuerarten besitzt nur das Rind neben einer ausgedehnten Prostata disseminata einen kleinen Prostatakörper. Bei verschiedenen Hirscharten, Ziege, Schaf und Reh findet sich lediglich eine Prostata disseminata (Müller, 1904; Wislocki, 1949; Aitken, 1959; Aughey, 1969), deren Drüsenläppchen die Harnröhre über die ganze Länge ihrer Pars pelvina begleiten.

Der Prostatakörper des Rindes liegt in der Höhe des kaudalen Randes des Foramen obturatum und stellt eine spangenförmige Verdickung von ca. 1 cm Länge und 3 cm Breite dar, welcher der Harnröhre dorsal aufsitzt (Nickel, 1954). Die Prostata disseminata ist beim Rind ein 9-14 cm langes Drüsenlager in der Harnröhrenwandung. Dabei sind die Einzeldrüsen am dorsalen Umfang der Urethra kräftiger ausgebildet als in der seitlichen und ventralen Wand (Nickel, 1954).

Im histologischen Bau sind Prostatakörper und Prostata disseminata weitgehend identisch. Beide Regionen enthalten zusammengesetzte Einzeldrüsen, deren kleinere

intraglandulären Gänge abschnittsweise spindelförmige Erweiterungen aufweisen, welche als Sekretspeicherräume angesehen werden (Krölling und Grau, 1960). Die sekretorischen Anteile der Drüsen einschließlich der intraglandulären Gänge sind mit einem einfachen isoprismatischen bis zylindrischen Epithel ausgekleidet, in dem zusätzlich gelegentlich kleine Basalzellen vorkommen (Krölling und Grau, 1960).

Die Bindegewebstrabekel zwischen den Einzeldrüsen enthalten beim Rind nur mäßig viel glatte Muskulatur, das intraglanduläre Interstitium besteht größtenteils aus lockerem Bindegewebe (Krölling und Grau, 1960).

Histochemische Untersuchungen sind am Prostataparenchym des Rindes bisher noch nicht in nennenswertem Umfang durchgeführt worden. Lediglich der Kohlehydratgehalt der Drüsenzellen wurde mittels PAS- und Alcianblaufärbungen dargestellt (Aitken, 1959). Deswegen soll im folgenden über die Substrat- und Enzymhistochemie des Prostataparenchyms berichtet werden.

Material und Methoden

Untersucht wurden die Prostatae von 10 geschlechtsreifen Rindern und 3 juvenilen Kälbern. Die Entnahme des Materials erfolgte auf dem Schlachthof Marburg unmittelbar nach der Tötung der Tiere.

Für die allgemeine Histologie und die substrathistochemischen Untersuchungen wurden die entnommenen Proben in Formol-Calcium sowie in dem Gemisch von Rossmann fixiert, in Paraffin eingebettet und ca. 5 µ dick geschnitten.

Folgende Färbemethoden und Substratnachweise wurden angewandt:
Hämalaun-Erythosin nach Mayer, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, Azan, Trichromfärbung nach Masson-Goldner in der Modifikation von Jerusalem (1963), Chromalaun-Hämatoxylin-Phloxin nach Gomori, van Gieson, Bismarckbraun, PAS-Reaktion nach Lillie (einschließlich Kontrollen ohne Oxydation, nach Acetylierung, nach Entacetylierung, nach Methanol-Chloroform-Extraktion und nach Diastaseverdauung). Saure Gruppen in Schleimsubstanzen wurden mit Alcianblau nach Steedman bei pH 0,5 und 2,5 nachgewiesen. Zur weiteren Differenzierung dienten Alciangrün bei pH 2,5, Astrablau bei pH 3 und Alcianblau bei pH 2,5 nach Neuraminidaseverdauung. Zur gleichzeitigen Erfassung neutraler und saurer Schleime diente die Alcianblau (pH 2,5)-PAS Kombinationsfärbung. Glykogen wurde mittels der Bleitetraacetat (BTA)-Schiff-Reaktion nach Shimizu und Kumamoto (1952) nachgewiesen. Die notwendigen Kontrollen erfolgten mit Diastase und Saliva.

Der Nucleinsäurenachweis wurde mit Gallocyanin-Chromalaun nach Einarson und mittels der Feulgenfärbung durchgeführt. Eiweiß wurde mit der Quecksilber-Bromphenolblau-Reaktion nachgewiesen. Das Vorkommen von Lipiden wurde mit Sudan-Schwarz-B am unfixierten Gefrierschnitt überprüft.

Für die enzymhistochemischen Untersuchungen wurde das Gewebe unmittelbar nach dem Tode der Tiere mit CO_2-Schnee aufgefroren und in einem Kryostaten (System Dittes-Duspiva) ca. 10 μ dick geschnitten.

Nach den Vorschriften von Hess, Scarpelli und Pearse (1958) sowie von Nachlas, Walker und Seligman (1958) wurden folgende Oxydoreductasen nachgewiesen: NADH-Tetrazoliumreductase (NADH-T-Red), NADPH-Tetrazoliumreductase (NADPH-T-Red), Succinatdehydrogenase (SDH), Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (G-6-PDH), Glycerin-1-phosphatdehydrogenase (GDH), Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase (GAPDH), Lactatdehydrogenase (LDH), β-Hydroxy-

butyratdehydrogenase (β-HBDH), NAD- und NDPH- abhängige Isocitratdehydrogenase (ICDH-NAD und ICDH-NADPH) und Malatdehydrogenase (MDH).

Die Methodik von Burstone (1959) diente zum Nachweis von Cytochromoxydase (Cyt-Ox).

Außerdem wurde die histochemische Aktivität folgender Hydrolasen studiert:
Unspezifische Esterase nach Holt und Withers (1958), unspezifische Esterase nach Nachlas und Seligman (1949), unspezifische alkalische Phosphatase nach Burstone und Weisburger (1961) und nach Gomori (1949), unspezifische saure Phosphatase nach Barka und Anderson (1962), Adenosintriphosphatase (ATP'ase) bei pH 7,2, Glucose-6-Phosphatase, 5'-Nucleotidase (alle nach von Deimling, 1964), β-D-Glucuronidase nach Seligman, Tsou, Rutenburg und Cohen (1954), Leucinaminopeptidase (LAP) nach Nachlas, Crawford und Seligman (1957).

Befunde

Allgemeine Histologie und Substrathistochemie

Die Drüsenläppchen in Prostatakörper und Prostata disseminata zeigen grundsätzlich einen übereinstimmenden Aufbau. Der vorwiegend tubuläre Bautyp der Drüsen ist auch an Einzelschnitten gut sichtbar: Im Zentrum eines Läppchens erkennt man zumeist einen zentral gelegenen stark gebuchteten Gang, dessen Durchmesser in den einzelnen Läppchen größere Unterschiede aufweist. Die Buchten dieser intraglandulären Gänge setzen sich in die leicht gewundenen Drüsentubuli fort, welche die eigent-

lichen Endstücke der Prostata des Rindes darstellen. Diese Endstücke besitzen relativ kleine Lumina und werden auf Querschnitten von 5-15 Zellen begrenzt. Das Epithel in den intralobulären Gängen und den Endstücken ist vom histologischen Bild her identisch. Es wird aus einer einschichtigen Lage von isoprismatischen bis hochzylindrischen Zellen gebildet, zwischen denen gelegentlich kleine rundliche oder pyramidenförmige Basalzellen eingelagert sind. Die kubischen bis zylindrischen Parenchymzellen besitzen eine verbreiterte Basis und einen sich verjüngenden apikalen Zellpol. Die relativ großen runden Zellkerne liegen bei den zylindrischen Zellen in der Zellmitte.

Mit der Trichromfärbung nach Masson-Goldner-Jerusalem lassen sich in den intralobulären Gängen und den Endstücken neben den Basalzellen prinzipiell 2 Zellformen (Hauptzellen) häufig feststellen.

I. Zellen, die in ihrem supranuklearen Bereich rotgefärbte Granula enthalten.

II. Zellen mit einer nur schwer erkennbaren granulären Plasmabinnenstruktur, deren Apices sich manchmal leicht lumenwärts vorwölben.

Auf der Höhe der Faltenkämme in den intralobulären Gängen liegen außerdem Gruppen von kleineren polygonalen, cytoplasmaarmen Zellen mit blassen, runden Kernen. Solche Zellen werden in gleicher Lage auch in der Prostata der Ziege angetroffen (Wrobel, 1972). Sie lassen auch dort keinerlei morphologische Anzeichen einer Sekretionstätigkeit erkennen und werden als juvenile Elemente angesehen, die wahrscheinlich als Ersatzzellen für das intralobuläre Gangepithel fungieren.

Die Hauptzellen von Typ I mit nach der Trichromfärbung roten Granula produzieren offensichtlich ein Sekret von Proteinnatur. Diese Granula färben sich nämlich ebenfalls leuchtend rot an bei Behandlung der Schnitte mit Chromalaun-Hämatoxylin-Phloxin (Abb. 1), lassen sich mit Eisenhämatoxylin schwärzen und reagieren positiv

auf den spezifischen Proteinnachweis mit Quecksilber-Bromphenolblau. Die Anzahl solcher proteinpositiven Drüsenzellen ist in den untersuchten Schnitten sehr stark variabel; insgesamt hat man allerdings den Eindruck, daß im Prostatakörper mehr solcher Zellen liegen als in den Drüsen der Prostata disseminata.

Die Granula in den Hauptzellen vom Typ II (ungefärbt bei Trichromfärbung) geben eine positive Schleimreaktion mit Bismarckbraun. Es zeigt sich, daß bei vielen Drüsenläppchen die Epithelien der intralobulären Gänge und der mündungsnahen Abschnitte der Endstücke nur verhältnismäßig wenig Schleimgranula im apikalen Cytoplasma beherbergen; dagegen liegen in der Läppchenperipherie, die von den blinden Enden der tubulären Endstücke gebildet wird, besonders hohe zylindrische Epithelzellen, deren gesamtes supranukleares Cytoplasma mit goldbraun tingierten Muzingranula angefüllt ist.

Die Bismarckbraun-positiven Muzingranula verhalten sich ebenfalls PAS-positiv (Abb. 2). Diese PAS-Reaktion ist resistent gegenüber vorheriger Diastase- oder Salivabehandlung der Schnitte, läßt sich durch Acetylierung reversibel blockieren und wird durch Methanol-Chloroform-extraktion nicht beeinflußt. Vergleicht man Parallelschnitte, die mit Bismarckbraun bzw. PAS tingiert wurden, so hat man den Eindruck, daß durch die PAS-Färbung eine größere Anzahl von Granula erfaßt wird.

Bei der Sequenz Alcianblau (pH 2,5)-PAS zeigen die meisten Muzingranula eine violette Kombinationsfarbe. Dabei ist die Alcianophilie der Granula aber durchaus uneinheitlich. Dies kommt auch durch die isolierte Alcianblau (pH 2,5)-Färbung der Schnitte zum Ausdruck: Die Tinction der Granula wechselt von zartblau bis tief dunkelblau, wobei alle Granula einer Zelle etwa die gleiche Tönung aufweisen. Die Alcianophilie der Muzingranula in der Prostata des Rindes ist neuraminidaselabil. Eine Anfärbbarkeit der Granula mit Alcianblau bei pH 0,5 gelingt nicht.

In den Drüsenzellen des Prostatakörpers läßt sich mittels der Bleitetraacetat-Schiff-Methode auch etwas feingranuläres diastaselabiles Material nachweisen. Es handelt sich hierbei um Glykogen, das besonders in den zentralen Partien der Drüsenläppchen anzutreffen ist.

Der Lipidnachweis mit Sudan-Schwarz-B am unfixierten Gefrierschnitt zeigt in den meisten Parenchymzellen einige regelmäßig geformte runde positive Granula, deren Lokalisation sich aber nicht auf die supranukleare Zellregion alleine beschränkt. Die lipidpositiven Gebilde dürften deshalb nicht mit den proteinhaltigen oder den muzinpositiven Sekretgranula der Prostata identisch sein.

Die Substrathistochemie des juvenilen Tieres ist derjenigen des erwachsenen sehr ähnlich. Lediglich geben die meisten granulahaltigen Hauptzellen eine positive Muzinreaktion mit Bismarckbraun und PAS, während durch den Proteinnachweis wesentlich weniger positive Zellen erfaßt werden als beim adulten Tier.

Enzymhistochemische Befunde

Um bei der Befundbeschreibung Veränderungen im Enzymgehalt besser charakterisieren zu können, wird jede verbale Angabe über eine Fermentaktivität zusätzlich durch ein nachgestelltes Symbol verdeutlicht. Folgende Symbole finden dabei Verwendung: - : negative Reaktion; $\pm$: undeutliche Reaktion; + : schwache Aktivität oder Synonym; ++ : mittelgradige Aktivität oder Synonym; +++ : starke Aktivität oder Synonym; ++++ : sehr starke Aktivität oder Synonym. Wenn nicht besonders erwähnt, beziehen sich die mitgeteilten Daten auf

das Epithel von Prostatakörper und Prostata disseminata sowohl des erwachsenen als auch des juvenilen Rindes.

NADH-T-Red:
Beim geschlechtsreifen Tier beobachtet man eine sehr starke Reaktion (++++) im Epithel des Corpus prostaticum (Abb. 3), während das Epithel der Prostata disseminata stark bis sehr stark (+++ bis ++++) reagiert. Genauso (+++ bis ++++) fällt auch der Enzymnachweis beim juvenilen Tier in beiden Abschnitten der Prostata aus.

NADPH-T-Red:
Das Prostataepithel vom juvenilen und erwachsenen Rind enthält große Mengen von Formazan als Zeichen einer insgesamt starken (+++) Enzymaktivität. Hierbei fällt auf, daß sich das Epithel im Prostatakörper des Erwachsenen nicht einheitlich verhält: Neben Bezirken mit starker (+++) sieht man solche mit mittelgradiger (++) und schwacher (+) Enzymtätigkeit.

Enzyme der Glykolysekette und ihrer Seitenwege: GAPDH, LDH, GDH:
Das Prostataepithel gestattet in allen Regionen einen im ganzen kräftigen (+++) GAPDH- und LDH-Nachweis (Abb. 4). Demgegenüber verhält sich die GDH unterschiedlich. Eine mittelgradige (++) Reaktion im Epithel der juvenilen Prostata (Abb. 5) und im Prostatakörper des Erwachsenen kontrastiert mit einer starken Reaktion (+++) im Epithel der Prostata disseminata des geschlechtsreifen Tieres.

ICDH:
NAD- und NADP-abhängige Isocitratdehydrogenase entfalten im Drüsenepithel des erwachsenen Tieres mittelgradige Aktivitäten (++), wobei die Reaktion auf ICDH-NADP in der Prostata disseminata etwas kräftiger (++ bis +++) ausfällt. Beim juvenilen Rind reagiert die NADP-abhängige ICDH im Prostatakörper mittelkräftig (++), in der

Prostata disseminata stark (+++). Demgegenüber liegen die Formazangranula beim Nachweis der ICDH-NAD in der Prostata disseminata mäßig dicht (++), im Epithel des Prostatakörpers sind sie nur in geringer Konzentration (+) zu ermitteln.

SDH:
Beim geschlechtsreifen Tier und im juvenilen Prostatakörper beobachtet man eine deutliche Reaktion (++) auf SDH. In der Prostata disseminata des Kalbes (Abb. 6) treten Läppchen mit unterschiedlichem Enzymgehalt auf: Der Reaktionsausfall wechselt dabei von schwach (+) über mittelgradig (++) bis stark (+++).

MDH:
Beim Erwachsenen erreicht die nachweisbare Enzymkonzentration die Intensität der NADH-T-Red (+++ bis ++++), beim juvenilen Tier fällt sie merklich schwächer (++ bis +++) aus.

G-6-PDH:
Das Prostataepithel des Kalbes enthält dieses Enzym in geringen bis mittelgradigen Mengen (+ bis ++), während beim geschlechtsreifen Tier etwas mehr G-6-PDH in der Prostata angetroffen wird (++). Einzelne Zellen des Prostatakörpers fallen beim Erwachsenen durch eine besonders hohe Enzymkonzentration (+++) auf (Abb. 7).

β-HBDH:
Auch beim Nachweis von β-HBDH (Abb. 8) treten einzelne Zellen im Epithel der gesamten Prostata des Erwachsenen wegen ihrer starken Fermentaktivität (+++) optisch deutlich hervor, während das übrige Epithel von Prostatakörper und Prostata disseminata mäßig stark positiv (++) reagiert. Beim juvenilen Tier enthält das Parenchym der Prostata disseminata verhältnismäßig viele Formazangranula (+++); im Epithel des Corpus prostaticum ist demgegenüber ein abgeschwächter Reaktionsausfall (++) zu verzeichnen.

Cyt-Ox:
Beim Erwachsenen färben sich beide Prostataabteilungen als Zeichen einer deutlichen bis kräftigen (++ bis +++) Enzymaktivität graublau an, während die Reaktion beim juvenilen Tier merklich schwächer (+ bis ++) ausfällt.

Alk. Phosphatase:
Weder mit der Methode nach GOMORI (1949) noch mit derjenigen nach BURSTONE (1949) läßt sich im Prostataepithel des Rindes alkalische Phosphatase nachweisen. Dagegen reagieren alle Kapillaren des Präparates stark positiv (+++).

Glucose-6-Phosphatase:
Beim Nachweis der Glucose-6-Phosphatase verhalten sich alle Gewebskomponenten der Schnitte negativ (-).

Adenosintriphosphatase:
Der Reaktionsausfall erinnert an den Nachweis der alkalischen Phosphatase: Ein negatives (-) Epithel kontrastiert mit stark positiven (+++) Kapillaren.

5'-Nucleotidase:
Das Prostataepithel reagiert insgesamt mittelgradig stark positiv (++). Ein apikaler Saum enthält wesentlich mehr Reaktionsprodukte (+++) und erscheint dadurch schwarzbraun tingiert (Abb. 9).

Saure Phosphatase:
In allen Präparaten reagiert das Epithel stark positiv (+++) auf saure Phosphatase. Einzelne Zellen verhalten sich sogar sehr stark positiv (++++). Hierbei konzentrieren sich die Farbniederschläge stets auf die basalen Zellbereiche und nehmen nach apikal zu an Menge ab (Abb. 10). In einzelnen Zellen bleiben die Apices sogar völlig negativ.

Unspezifische Esterase:
a. Methode nach HOLT und WITHERS (1958):
Beim geschlechtsreifen Tier reagiert das Epithel insgesamt mittelgradig (++). In der Prostata disseminata

massieren sich die Indigoniederschläge vor allem in den Zellbasen. Beim juvenilen Tier ist die Reaktion im Prostatakörper leicht abgeschwächt (+ bis ++), in der Prostata disseminata fast negativ (±).

b. Methode nach NACHLAS und SELIGMAN (1949):
Beim Erwachsenen beobachtet man eine schwache bis mittelmäßige Reaktion (+ bis ++) in der überwiegenden Mehrzahl der Epithelzellen. Einzelne Zellgruppen enthalten aber wesentlich mehr (++++) Farbniederschläge. Beim juvenilen Tier fällt der Nachweis insgesamt schwach positiv (+) aus.

β-D-Glucuronidase:
Im Prostataepithel läßt sich eine schwache Glucuronidasekonzentration (+) nachweisen.

LAP:
Beim juvenilen Tier verhält sich das Prostataepithel insgesamt schwach bis mittelgradig positiv (+ bis ++). Beim Erwachsenen steht eine schwache Reaktion (+) im Corpus prostaticum einer deutlichen im Epithel der Prostata disseminata gegenüber.

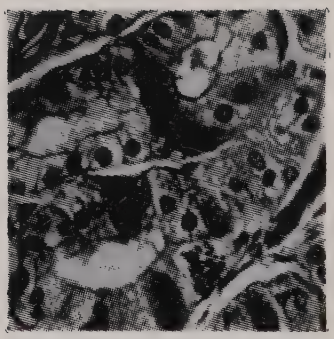

Abb. 1

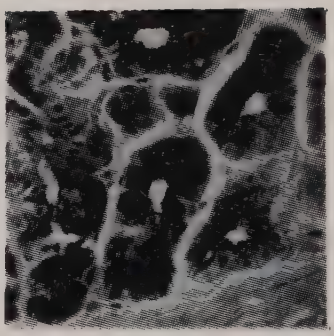

Abb. 2

Abb. 1: Prostatakörper vom Bullen. Die protein-positiven Drüsenzellen enthalten phloxinophile Granula in wechselnder Menge. Chromalaun-Hämatoxylin-Phloxin, ca. 560fach.

Abb. 2: Prostata disseminata vom Bullen. Positive PAS-Reaktion in muzinhaltigen Drüsenzellen. PAS-Reaktion, ca. 350fach.

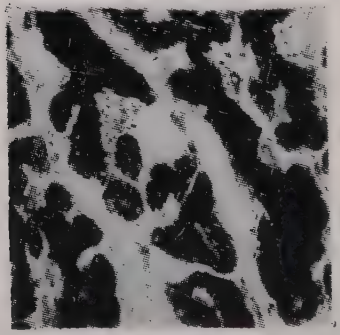

Abb. 3

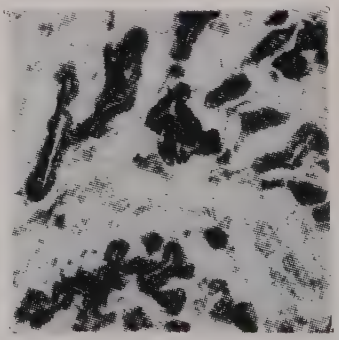

Abb. 4

Abb. 3: Prostatakörper vom Bullen. Sehr starke Reaktion auf NADH-T-Red im Parenchym, ca. 220fach.

Abb. 4: Prostata disseminata vom Kalb. Bereits beim juvenilen Tier fällt der Nachweis auf LDH kräftig aus. Ca. 140fach

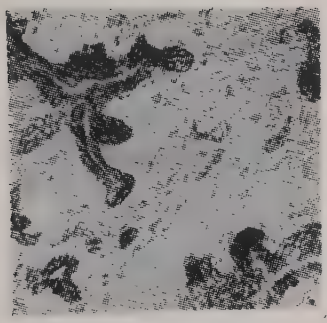

Abb. 5

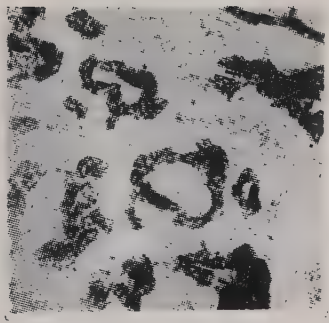

Abb. 6

Abb. 5: Prostata disseminata vom Kalb. Mittelgradige GDH-Reaktion, ca. 220fach.
Abb. 6: Prostata disseminata vom Kalb. Unterschiedlich großer GDH-Gehalt in einzelnen Drüsenabschnitten. Ca. 220fach.

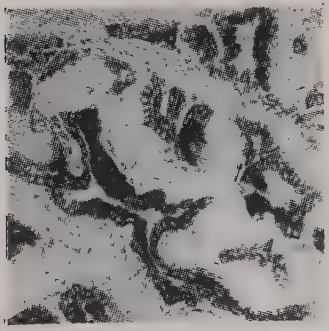

Abb. 7

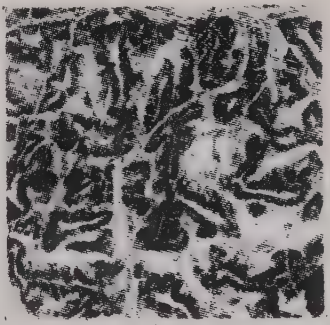

Abb. 8

Abb. 7: Prostatakörper vom Bullen. G-6-PDH. Einzelne Zellgruppen fallen durch besonders hohe Formazankonzentrationen auf. Ca. 220fach.
Abb. 8: Prostata disseminata vom Bullen. Zellen mit starker und mäßig starker Reaktion auf β-HBDH. Ca. 140fach.

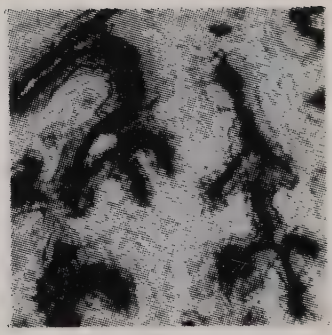

Abb. 9

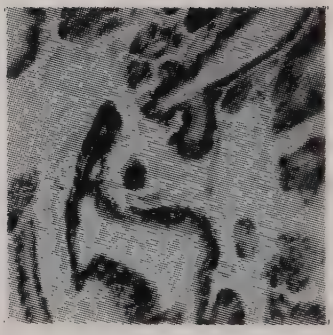

Abb. 10

Abb. 9: Prostatakörper vom Kalb. Nachweis der 5'-Nucleotidase. Ein apikaler Zellsaum enthält besonders viele Reaktionsprodukte. Ca. 220fach.
Abb. 10: Prostatakörper vom Bullen. Saure Phosphatase konzentriert sich bevorzugt auf die basalen Epithelbereiche. Ca. 220fach.

Diskussion

Von allen bisher untersuchten Wiederkäuerarten besitzt lediglich das Rind neben der bei Wiederkäuern allgemein vorhandenen Prostata disseminata auch einen kleinen Prostatakörper. Beide Prostataregionen zeigen beim Rind aber grundsätzlich die gleiche Organisation: Sie bestehen aus zusammengesetzten Einzeldrüsen von vorwiegend tubulärem Bau. Im Epithel der Endstücke und intralobulären Gänge trifft man 4 Zelltypen an:

1. Sezernierende Hauptzellen, welche Granula mit positiver Proteinreaktion enthalten. Wenn auch die Anzahl solcher Drüsenzellen in den einzelnen Schnitten erheblichen Variationen unterliegt, so ist grundsätzlich das Epithel des Prostatakörpers reicher an protein-positiven Zellen als das Epithel der Prostata disseminata.

2. Sezernierende Hauptzellen mit positiver Schleimreaktion. Ähnlich wie bei der Prostata disseminata der Ziege (Grobel, 1972) läßt sich auch bei der Prostata des Rindes beobachten, daß die schleimpositiven Zellen bevorzugt in der Läppchenperipherie, das heißt, in den distalen Enden der Drüsentubuli lokalisiert sind.

   Die Muzingranula geben alle eine positive PAS-Reaktion. Diese ist diastase- und salivaresistent, wird durch Behandlung der Schnitte mit einer Methanol-Chloroformmischung nicht abgeschwächt und kann durch Acetylierung reversibel blockiert werden. Die positive PAS-Reaktion ist deshalb auf benachbarte Glykolgruppen der am Muzinaufbau beteiligten Zucker- und Aminozuckermoleküle zurückzuführen. Der größte Teil der PAS-positiven Sekretgranula besitzt eine allerdings unterschiedlich kräftige Affinität zu Alcianblau bei pH 2,5. Bei pH 0,5 bleiben alle Granula ungefärbt. Diese unterschied-

liche Alcianophilie bei verändertem pH erlaubt eine histochemische Differenzierung saurer Gruppen in epithelialen Muzinen und Mucopolysacchariden: Die Farbstoffe aus der Reihe der Phthalocyanine, nämlich, deren Wirkungsweise vor allem am Alcianblau studiert wurde (Quintarelli, Scott und Dellovo, 1964 a, 1964 b; Scott, Quintarelli und Dellovo, 1964; Quintarelli und Scott, 1965; Scott und Quintarelli, 1965) besitzen pro Molekül je 4 positiv geladene Isothioroniumionen, welche mit den negativ geladenen Gruppen der Schleimsubstanzen elektrostatische Bindungen eingehen. Bei der Differenzierung epithelialer Schleimstoffe kommen als negative Gruppen einmal Sulfate, zum anderen die Carboxylgruppen der Neuraminsäure (Sialinsäure) in Frage. Beide Anionen binden das Alcianblau bei pH 2,5. Senkt man die Wasserstoffionenkonzentration auf Werte von 1,0 und darunter, so sind die schwächer sauren Carboxylgruppen nicht mehr dissoziiert, und lediglich die stärker sauren Sulfatgruppen stehen für die elektrostatische Bindung noch zur Verfügung. In der Prostata des Rindes lassen sich mittels der Alcianblaureaktionen keine Sulfatgruppen nachweisen, die Farbreaktion der Granula bei pH 2,5 ist ausschließlich auf die Anwesenheit von Carboxylgruppen in der am Aufbau beteiligten Sialinsäure zurückzuführen. Dies geht auch daraus hervor, daß nach Neuraminidaseverdauung auch bei pH 2,5 keine Alcianophilie mehr nachzuweisen ist. Das Muzin in den Granula der schleimpositiven Prostatazellen des Rindes ist also als ein Sialomuzin zu bezeichnen.

Die Ausdifferenzierung des schleimproduzierenden Anteils des Prostataparenchyms scheint der Ausdifferenzierung des proteinsezernierenden Anteils zeitlich vorauszugehen, denn beim juvenilen Tier sind die Zellen mit eiweißpositiven Granula sel-

ten, während die muzinhaltigen Zellen quantitativ stark vertreten sind.

3. Kleine rundliche oder pyramidenförmige Basalzellen. Diese werden gelegentlich zwischen den Hauptzellen und der Basalmembran angetroffen. Sie machen einen undifferenzierten Eindruck und dürften als Reservezellen fungieren.

4. Kleine, polygonale, cytoplasmaarme Zellen mit blassen, runden Kernen, die auf den Kämmen der Falten in den intraglandulären Gängen in Gruppen angetroffen werden. Möglicherweise sind diese Zellgruppen östrogensensibel, denn Ruitenberg, Kroes und Berkvens (1969) konnten zeigen, daß die Applikation von Östrogenen beim Rind zu einer Veränderung der Zellen besonders auf den Faltenkämmen der intraglandulären Prostatagänge führt. Die Faltenkämme verdicken sich dabei polsterartig und sind von einem mehrschichtigen Epithel bedeckt, dessen Zellen große Ähnlichkeit mit dem in diesem Abschnitt besprochenen Zelltyp aufweisen.

Während beim Rothirsch deutliche histologische und substrathistochemische Unterschiede zwischen den kranialen und den kaudalen Drüsenläppchen der Prostata disseminata festzustellen sind (Aughey, 1969) konnte ein solcher Befund beim Rind wie auch bei den anderen bisher genauer untersuchten Hauswiederkäuern nicht erhoben werden.

Das histochemisch nachweisbare Verteilungsmuster von Oxydoreductasen erlaubt Rückschlüsse auf die Kapazitäten wichtiger Teilstrecken des intermediären Zellstoffwechsels. Die von uns durchgeführten Reaktionen unterrichten über die Atmungskette, den Pentosephosphatzyklus, den Citronensäurezyklus und die Glykolysekette.

Die Enzyme der Glykolysekette sind in der cytoplasmatischen Matrix lokalisiert. Von den Fermenten des

Embden-Meyerhof-Schemas und seiner Seitenwege wurden nachgewiesen: Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase (GAPDH), Lactatdehydrogenase (LDH) und Glycerin-1-phosphatdehydrogenase (GDH). GAPDH oxydiert Glycerinaldehyd-3-phosphat in Anwesenheit von NAD zu 1,3-Diphosphoglycerinsäure. GDH kann Dihydroxyacetonphosphat und Glycerin-1-phosphat reversibel ineinander überführen. Somit kann dieses Enzym aus dem Fettabbau stammende Phosphotriosen in die Glykolysekette einführen, und ist außerdem an der Synthese von Fetten und Phosphatiden beteiligt (Kornberg und Pricer, jr., 1953; Weiss, Wagner-Smith und Kennedy, 1956). Während GAPDH und GDH auch in den aeroben Abbau der Kohlehydrate eingreifen, ist die LDH das Schlüsselenzym für die anaerobe Glykolyse, denn sie katalysiert die Reduktion der Brenztraubensäure zu Milchsäure.

In der Prostata des Rindes lassen sich starke Aktivitäten der GAPDH und LDH in den Drüsenabteilungen sowohl beim juvenilen als auch beim erwachsenen Tier nachweisen. Kräftig positiv verhält sich auch die GDH in der Prostata disseminata des erwachsenen Rindes, während sie im Prostatakörper und in der gesamten Prostata des juvenilen Tieres nur eine mittelgradige Aktivität entfaltet.

Interessant ist der Vergleich zwischen den Kapazitäten der Glykolyse und der oxydativen Energiegewinnung. Über diese läßt die histochemische Verteilung von Cyt-Ox (Atmungskette), ICDH, MDH und SDH (alle drei Citronensäurezyklus) Aufschlüsse zu. Alle diese Enzyme sind vornehmlich in den Mitochondrien lokalisiert, die coenzymunabhängige SDH konnte elektronenmikroskopisch-histochemisch im Intracristaraum nachgewiesen werden (Tsou, Goodwin, Lynn und Seamond, 1968). SDH dehydriert Succinat zu Fumarat, die MDH dehydriert die Alkoholgruppe des Malats zu Oxalacetat, ICDH überträgt den Wasserstoff vom Isocitrat auf die Coenzyme NAD oder NADP und katalysiert dabei gleichzeitig die Decarboxy-

lierung von Oxalsuccinat, so daß als Endprodukt der ICDH-Wirkung α-Ketoglutarat entsteht. Die Cytochromoxydase steht am Ende der Atmungskette und führt den Sauerstoff in dieselbe ein.

In der Prostata des erwachsenen Rindes entfalten die oxydativen Stoffwechselenzyme des Citratzyklus und der Atmungskette grundsätzlich deutliche bis kräftige Aktivitäten, beim juvenilen Tier fällt die Reaktion oftmals etwas schwächer aus. Für die Energieversorgung des Prostataparenchyms des Rindes dürften somit glykolytische und oxydative Stoffwechselwege eine etwa gleichwertige Bedeutung haben. Ähnlich liegen die Verhältnisse in der Prostata des Hundes (M.Wrobel, 1972), während im Prostataparenchym der Katze eindeutig die glykolytischen Enzyme dominieren (M.Wrobel, 1972) und in der Prostata der Ziege die oxydativen Enzyme wesentlich kräftigere Aktivitäten als die glykolytischen entfalten (Wrobel, 1972).

Von den beiden wichtigen energiebereitstellenden Stoffwechselwegen ist offensichtlich nur der oxydative hormonabhängig: Barron und Huggins (1944) konnten durch biochemische Analysen isolierter Gewebsscheiben an der Hundeprostata nachweisen, daß der Gehalt an SDH und Cyt-Ox durch Kastration rapide verringert werden kann, während die biochemische Aktivität glykolytischer Enzyme durch diesen Eingriff unbeeinflußt bleibt. Die besondere Bedeutung der mitochondrialen Energiegewinnung für die geschlechtsreife Prostata wird auch durch unsere Befunde unterstrichen, da beim juvenilen Tier in der Regel geringere Werte an ICDH, SDH, MDH und Cyt-Ox festzustellen sind.

Die Glucose-6-phosphatdehydrogenase (G-6-PDH) ist das Starterenzym des Pentosephosphatzyklus. Dieser Stoffwechselweg ist bei Fraktionierungsversuchen an die lösliche Phase gebunden und somit also in der cytoplasmatischen Matrix lokalisiert. Die Bedeutung des Pentosephosphatzyklus liegt weniger in einem energiebereit-

stellenden direkten Abbau des Glucose-6-phosphats, sondern darin, daß NADPH und Pentosen für weitere Syntheseleistungen der Zellen bereitgestellt werden. So erklärt sich, daß beim Rind in der erwachsenen Prostata, die eine größere Aktivität entfaltet als die juvenile Drüse, auch höhere G-6-PDH-Werte histochemisch darzustellen sind.

Alkalische Phosphatase und Adenosintriphosphatase lassen sich im Prostataepithel des Rindes nicht nachweisen; beide Enzyme sind aber in den Kapillaren des Organes in starker Konzentration vorhanden. Das beschriebene Verhalten der alkalischen Phosphatase ist auch in allen anderen bisher untersuchten Prostatae festzustellen: Mensch, Igel, Eichhörnchen, Kaninchen, Ratte, Maus und Gerbil (Müntzing, 1972), Katze (M.Wrobel, 1972), Hund (M.Wrobel, 1972, Müntzing, 1972), Ziege (Wrobel, 1972).

5'-Nucleotidase ist eine spezifische Phosphatase, welche Nukleotide mit einer Phosphatgruppe am Kohlenstoffatom 5 der Pentose hydrolysiert. Substrate des Enzyms sind Stoffe wie Adenosin-5-monophosphat, Guanosin-5-monophosphat, Inosin-5-monophosphat, Cytidin-5-monophosphat. Die biologische Aussagekraft des histochemischen 5'-Nucleotidasenachweises ist schwierig zu beurteilen. Erfahrungsgemäß konzentriert sich dieses Enzym bei vielen Drüsenepithelien auf die sekretorisch tätige Oberfläche. So gelingt beispielsweise mittels dieses Nachweises in der Glandula bulbourethralis der Katze (Wrobel, 1969) und der Prostata der Ziege (Wrobel, 1972) eine komplette Darstellung aller interzellulärer Sekretkapillaren. Auch in der Prostata des Rindes zeigt ein schmaler apikaler Epithelsaum die kräftigste Nucleotidaseaktivität.

Saure Phosphatase ist ein charakteristisches Enzym im Parenchym der Prostata aller bisher untersuchter Säugetierarten (Müntzing, 1972), obwohl die nachweisbare Menge tierartlich unterschiedlich sein kann. Die Spit-

zenwerte werden in der menschlichen Prostata beobachtet (Müntzing, 1972). Beim Rind lassen sich histochemisch starke bis sehr starke Enzymkonzentrationen ermitteln, die bevorzugt in der basalen Epithelhälfte lokalisiert sind.

Die Leucinaminopeptidase (LAP) ist das Enzym, welches in der Prostata des erwachsenen Rindes die größten Aktivitätsunterschiede zwischen Corpusteil und Disseminata erkennen läßt. Eine schwache Reaktion im Prostatakörper kontrastiert mit einer deutlichen in den Läppchen der Prostata disseminata. Die LAP ist das einzige Enzym aus der Gruppe der die CONH-Bindung spaltenden Hydrolasen, welches sich histochemisch darstellen läßt. LAP spaltet Leucin mit einer freien Aminogruppe vom Restpeptid ab. Da diese Reaktion reversibel ist, kann die Anwesenheit von LAP nach Burstone (1961) sowohl einen Eiweißabbau wie eine Eiweißsynthese belegen. Für eine Beteiligung an aufbauenden Reaktionen spricht auch, daß LAP in Ribosomen nachgewiesen werden konnte (Elson, 1967). Die biologische Bedeutung der LAP in der Prostata des Rindes ist darin zu sehen, daß sie an der Synthese der Proteinkomponente des Prostatasekretes beteiligt ist.

Zusammenfassung

Prostata disseminata und Prostatakörper des Rindes besitzen grundsätzlich den gleichen histologischen Bau: Sie bestehen aus zusammengesetzten Einzeldrüsen vom tubulären Typ.

In den Endstücken liegen 2 Arten von sekretorischen Hauptzellen: Zellen, die ein protein-positives Pro-

dukt und Zellen, welche ein Sialomuzin enthalten. Die Zellen mit protein-positiven Sekretgranula sind im Prostatakörper etwas häufiger als in der Prostata disseminata.

Im Prostataepithel des erwachsenen Tieres entfalten glykolytische und oxydative Stoffwechselenzyme deutliche Aktivitäten, während beim juvenilen Tier die nachgewiesenen Enzyme der Atmungskette und des Citratzyklus schwächer als diejenigen des Embden-Meyerhof-Schemas reagieren. Auch die Glucose-6-phosphatdehydrogenase, das Starterenzym des Pentosephosphatzyklus macht eine Aktivitätszunahme mit Eintritt der Geschlechtsreife durch.

Die Leucinaminopeptidase ist das einzige nachgewiesene Enzym, das erhebliche Konzentrationsunterschiede zwischen Prostatakörper und Prostata disseminata erkennen läßt.

Unterschiedliche histologische und histochemische Befunde in verschiedenen Regionen der Prostata disseminata des Rindes werden nicht erhoben. Für diese Tierart ist deshalb eine Unterteilung in einen kranialen und einen kaudalen Drüsenkomplex, wie es Aughey (1969) für die Prostata disseminata des Rothirsch beschreibt, nicht gerechtfertigt.

Literaturverzeichnis

Aitken, R.N.C.: Carbohydrate complexes in bull prostate. J. Histochem. Cytochem. 8, 71 (1959).

Aughey, E.: Histology and histochemistry of the male accessory glands of the red deer, Cervus elephus L. J. Reprod. Fert. 18, 399 - 407 (1969).

Barka, T., P.J. Anderson: Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as coupler. J. Histochem. Cytochem. 10, 741 - 753 (1962)

Barron, E. S.G., C. Huggins: Metabolism of isolated prostatic tissue. J. Urol. 51, 630 - 634 (1944).

Burstone, M.S.: Histochemical demonstration of cytochrome oxydase with new amine reagents. J. Histochem. Cytochem. 8, 63 - 70 (1959).

Burstone, M.S.: Enzyme histochemistry and its application in the study of neoplasms. Acad. Press, New York und London: 1962.

Burstone, M.S., E.K. Weisburger: New diazonium components as coupling agents in the demonstration of phosphatase. J. Histochem. Cytochem. 9, 301 - 303 (1961).

Deimling, O.H.v.: Die Darstellung phosphatfreisetzender Enzyme mittels Schwermetall-Simultan-Methode. Histochemie 4, 48 - 55 (1964).

Elson, D.: Ribosomal enzymes. In: Enzyme Cytology. Ed. by D.B. Roodyn. Acad. Press, London und New York: 1967.

Gomori, G.: Distribution of lipase in the tissues under hormonal and pathologic conditions. Arch. Path. 41, 121 - 129 (1949).

Hess, R., D. G. Scarpelli, A.G.E. Pearse: The cytochemical localization of oxydative enzymes. II. Pyridine nucleotide-linked dehydrogenases. J. biophys. biochem. Cytol. 4, 753 - 760 (1958).

Holt, S.J., R.F.J. Withers: Studies in enzyme histochemistry V. An appraisal of indigogenic reactions for esterase localization. Proc. roy. Soc. B. 148, 520 - 532 (1958).

Jerusalem, C.: Eine kleine Modifikation der Goldner-(Masson)-Trichromfärbung. Z.wiss. Mikr. 65, 320 - 321 (1963).

Kornberg, A., W.E. Pricer, jr.: Enzymatic esterification of α- glycerophosphate by long chain fatty acids. J. biol. Chem. 204, 345 - 357 (1953).

Krölling, O., H. Grau: Lehrbuch der Histologie und vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haustiere. 10.Aufl. Paul Parey, Berlin und Hamburg: 1960.

Müller, C.: Zur vergleichenden Anatomie und Histologie der Prostata der Haussäugetiere mit Einschluß der Prostata von Hirsch, Rehbock und Wildschwein. Inaug.-Diss. Zürich: 1904.

Müntzing, J.: The activity and distribution of some hydrolases in the prostate of various mammals. Int. J. Biochem. 3, 401 - 407 (1972).

Nachlas, M.M., D.T. Crawford, A.M. Seligman: The histochemical demonstration of leucine aminopeptidase. J. Histochem. Cytochem. 5, 264 - 278 (1957).

Nachlas, M.M., A.M. Seligman: The histochemical demonstration of esterase. J. nat. Cancer Inst. 9, 415 - 425 (1949).

Nachlas, M.M., D.G. Walker, A.M. Seligman: A histochemical method for the demonstration of diphosphopyridine nucleotide diaphorase. J. biophys. biochem. Cytol. 4, 29 - 38 (1958).

Nickel, R.: Zur Topographie der akzessorischen Geschlechtsdrüsen bei Schwein, Rind und Pferd. Tierärztl. Umsch. 9, 1 - 12 (1954).

Quintarelli, G., J. Scott: Staining properties of alcian blue. II. Alcian blue binding to tissue polyanions. J. Histochem. Cytochem. 13, 30 (1965).

Quintarelli, G., J. Scott, M. Dellovo: The chemical and histochemical properties of alcian blue. II. Dye binding of tissue polyanions. Histochemie 4, 86 - 98 (1964 a).

Quintarelli, G., J. Scott, M. Dellovo: The chemical and histochemical properties of alcian blue. III. Chemical blocking and unblocking. Histochemie 4, 99 - 112 (1964 b).

Ruitenberg, E.J., R. Kroes, J. Berkvens: Histological examination of the prostate as a check on oestrogen administration in calves. Zbl. Vet. Med. B. 16, 767 - 774 (1969).

Scott, J., G. Quintarelli: Staining properties of alcian blue. I. The mechanism of staining. J. Histochem. Cytochem. 13, 29 - 30 (1965).

Scott, J., G. Quintarelli, M. Dellovo: The chemical and histochemical properties of alcian blue. I. The

mechanism of alcian blue staining. Histochemie 4, 73 - 85 (1964).

Seligman, A.M., K.C. Tsou, S.H. Rutenburg, R.B. Cohen: Histochemical demonstration of β-D-glucuronidase with a synthetic substrate. J. Histochem. Cytochem. 2, 209 - 229 (1954).

Shimizu, N.T. Kumamoto: A lead tetraacetate-Schiff-method of polysaccharides in tissue sections. Stain Technol. 27, 97 - 106 (1952).

Tsou, K.C., C. Goodwin, D. Lynn, B. Seamond: Intracristae localization of succinic dehydrogenase activity with a new osmium containing tetra-tetrazolium salt (Os-TNST) 3rd. int. Congr. Histochem. Cytochem. New York: 1968.

Weiss, S.B.S. Wagner-Smith, E.P. Kennedy: Net synthesis of lecithin in an isolated enzyme system. Nature (Lond.) 178, 594 - 595 (1956).

Wislocki, G.B.: Seasonal changes in the testes, epididymidis and seminal vesicles of deer, investigated by histochemical methods. Endocrinology 44, 167 - 189 (1949).

Wrobel, K.-H.: Morphologische Untersuchungen an der Glandula bulbourethralis der Katze. Z. Zellforsch. 101, 607 - 620 (1969).

Wrobel, K.-H.: Histochemische Untersuchungen am Prostataparenchym der Ziege. Zbl. Vet. Med. C. 1, 64 - 72 (1972).

Wrobel, M.: Histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Prostata von Hund und Katze. Zbl. Vet. Med. C. 1, 93 - 116 (1972).

Lebenslauf

Ich, Manoutschehr Djannatian, wurde am 2.11.1942 als 1. Kind der Eheleute Abbas Djannatian und Sahra Djannatian geb. Alborzi in Isfahan geboren.
Vom Herbst 1949 bis zu meinem Abitur im Frühjahr 1961 besuchte ich die Schahpur-Schule in Teheran-Tadjrisch.
1962 kam ich nach Deutschland, wo ich, nach einem Jahr Studienkolleg in Frankfurt, im Wintersemester 1964/65 zum Medizinstudium an der Philipps-Universität Marburg zugelassen wurde. Ich studierte ausschließlich in Marburg, machte dort im Wintersemester 1966/67 mein Vorphysikum, im Wintersemester 1968/69 das Physikum und bestand am 24.11.1972 das Medizinische Staatsexamen. Seither bin ich als Medizinalassistent tätig.

Marburg, den 25.7.1973
Manoutschehr Djannatian

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren:

Petry, Rohen, Walcher, Dimroth, Seidel, Nultsch, Hensel, Karlson, Mann, Koransky, Schmid, Hamelmann, Hupe, Buchholz, Pots, Siegert, Hort, Schmitz-Moormann, Martini, Linneweh, Graul, Straub, Reim, Heuser, Schleyer, Berendes, Beckmann, Friederich, Jacob, Exner.